

上五島におけるインフルエンザウイルス AH3 の分子疫学解析

松本 文昭

Molecular Epidemiology of Influenza virus AH3 in Kamigoto Island

Fumiaki MATSUMOTO

Key word : Influenza virus, Molecular Epidemiology

キーワード: インフルエンザウイルス、分子疫学

はじめに

インフルエンザは、一般に冬季に流行する感染症であり、重症肺炎を含む急性呼吸器感染症の原因となることもある。

毎年、複数の季節性インフルエンザウイルス(AH1型、AH3型あるいはB型)が流行しているが、その中でもAH3型は、過去50年間ほとんどのシーズンで主要な流行型となっている¹⁾。

本県の五島列島を構成する上五島町は、人口約2.2万人を抱える離島であり、本土から約50km離れているため、本土地区等との人的交流によってインフルエンザの流行が起こると推察されている。そこで、上五島における唯一の病院である上五島病院を受診したインフルエンザ患者より採取された検体を用いて、2014/2015シーズンの主流行型であるインフルエンザウイルスAH3型のHemagglutinin 1 (HA1)遺伝子の塩基配列と詳細な患者情報を基盤とした分子疫学解析を行った。

尚、本研究は「成人の重症肺炎サーベイランス構築に関する研究(厚生労働科学研究費補助金 研究代表者 大石和徳)」の研究協力として、国立感染症研究所等と共同で実施した。

調査方法

1 検査材料

2014/15シーズンに上五島病院を受診し、臨床所見および迅速診断キットの判定が陽性となった患者を対象とした。文書にて研究内容を説明し、同意の得られた対象患者のうち、同シーズンの主流行型であるAH3型が検出され、同一地域・同一集団での初発例、流行ピーク時、流行終息時の症例および孤発症例である237例を本研究の対象とした。

2 検査方法

対象患者の臨床検体から、QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いてウイルスRNAの抽出を行い、SuperScript III Reverse Transcriptase (Thermo) によりcDNAを合成した後、Ex Taq HS (TaKaRa) を用いてPCRを行った。PCRは、既報に従いHA1遺伝子領域(363bp)を対象としたプライマーを用いて増幅反応を行った²⁾。得られた増幅産物はBigDye Terminator v3.1 Cycle sequencing Kitを用いて、ダイレクトシーケンシングを行い塩基配列の決定を行った。得られた塩基配列のうち100%配列が一致し、かつ、各地域・集団での初発例および最終発症例ではない症例を除外した。その結果、臨床株64株に参照株としてワクチン株4株(2004/05、2007/08、2009/10、2014/15シーズン)を加えた、計68株を用いて、国立感染症研究所において、時系列分子系統樹解析が行われた。時系列分子系統樹解析には、Bayesian Markov chain Monte Carlo (MCMC)法を用いた。本系統樹の作成においては、事前にmodel testを行い、最適化した条件下で系統樹が作成された。

結果及び考察

分子系統解析の結果、上五島では2014/15シーズンに2系統(Linage 1あるいは2)のAH3が流行していたことが明らかとなった(図1)。さらに、今回解析に供したAH3型のHA1遺伝子の解析領域における進化速度は、 1.04×10^{-2} substitution/site/yearであり、これは他の呼吸器ウイルス(RSウイルス)の主要抗原の進化速度と比較しても非常に速いことが示唆され^{3), 4), 5)}、インフルエンザウイルスAH3のHA1領域は、極めて速

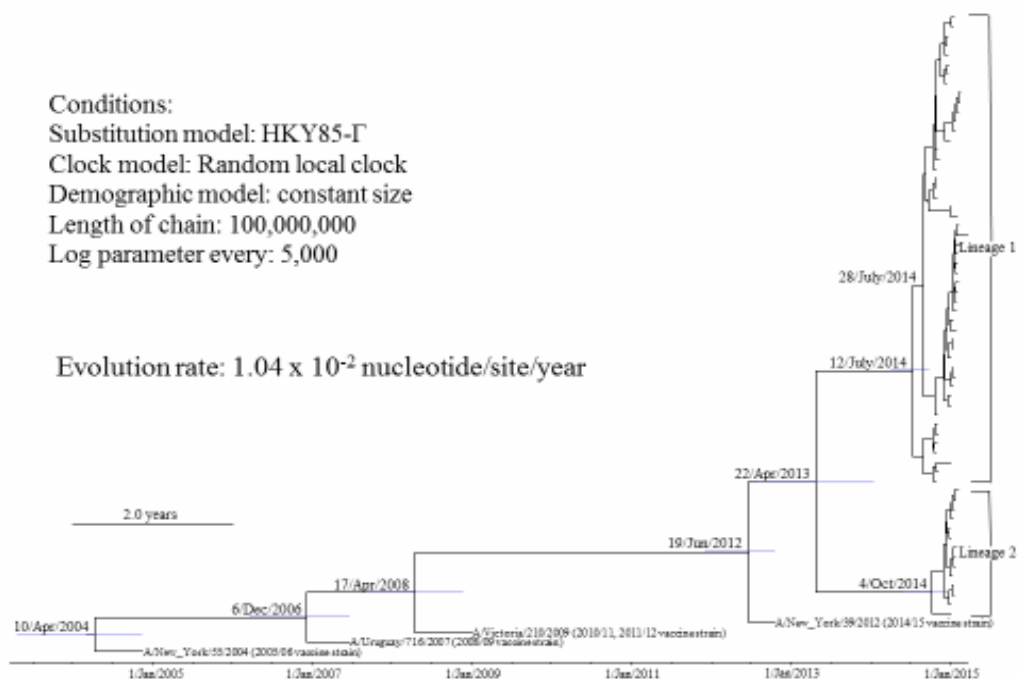


図 1. インフルエンザウイルス AH3 HA1 遺伝子時系列系統樹解析(MCMC 法)

い速度で進化していることが明らかになった。

各系統の患者在住地域、時系列的な患者発生データ、MCMC 法による系統解析および検出された AH3 の塩基配列を詳細に解析した結果、島内での時系列的な伝播が以下のように推定された(図 2)。まず、10 月下旬に青方地区から Lineage 1 由来株の流行が始まり、島南部にまで伝播し、その流行はいったん 11 月上旬には終息した。しかし、その後 12 月中旬から、10 月の流行原因となった株とは遺伝学的に異なる Lineage 1 由来の AH3 型が島中央部を中心に流行した。さらに、12 月下旬以降は上述した 2 つの株と遺伝学的に異なる Lineage 2 由来株が流行していた。以上のことから、調査期間中に上五島地域においては、2 系統の遺伝学的に多様な AH3 型が流行していたことが示唆された。

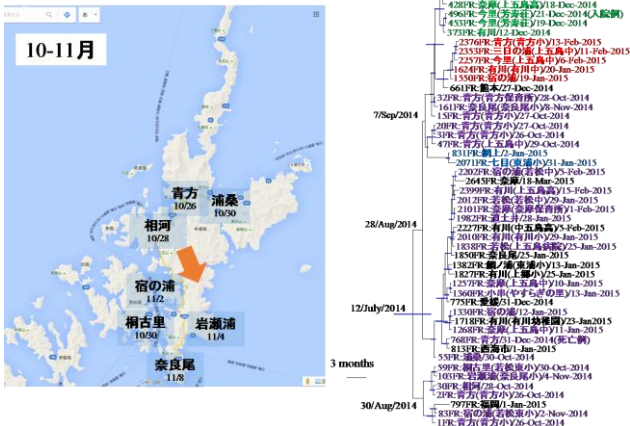
謝 辞

本解析を遂行するにあたり、厚生労働科学研究事業の研究代表者である大石 和徳先生(国立感染症研究所 感染症疫学センター長)をはじめ、技術的な指導、助言をいただいた研究分担者の木村 博一先生(同研究所 感染症疫学センター 第 6 室長)及び同事業の研究分担者、研究協力者に深謝する。

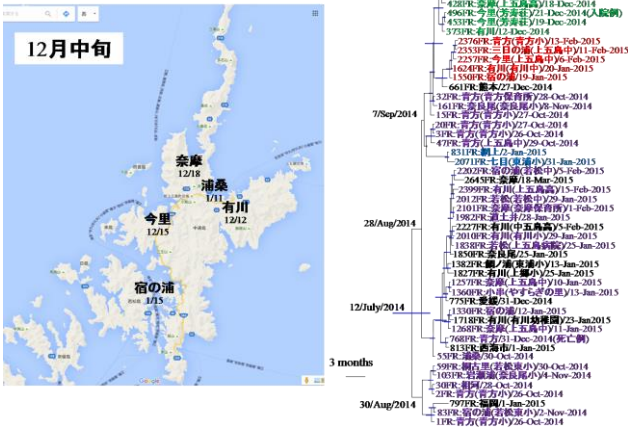
参 考 文 献

- 1) Wright PE, et al. Orthomyxoviruses; in Knipe DM, et al (eds): Fields Virology, ed 5, revised. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2007, pp 1691-740.
- 2) Saitoh M, et al. Molecular evolution of HA1 in influenza A (H3N2) viruses isolated in Japan from 1989 to 2006. *Intervirology*. 2008, **51**, 377-84.
- 3) Hirano E, et al. Molecular evolution of human respiratory syncytial virus attachment glycoprotein (G) gene of new genotype ON1 and ancestor NA1. *Infect Genet Evol*. 2014, **28**, 183-91.
- 4) Nagasawa K, et al. Molecular evolution of the hypervariable region of the attachment glycoprotein gene in human respiratory syncytial virus subgroup B genotypes BA9 and BA10. *Infect Genet Evol*. 2015, **36**, 217-23.
- 5) Kimura H, et al. Molecular evolution of hemagglutinin (H) gene in measles virus. *Sci Rep*. 2015, **5**, 11648.

MCMC tree (Lineage 1)



MCMC tree (Lineage 1)



MCMC tree (Lineage 1)



MCMC tree (Lineage 2)

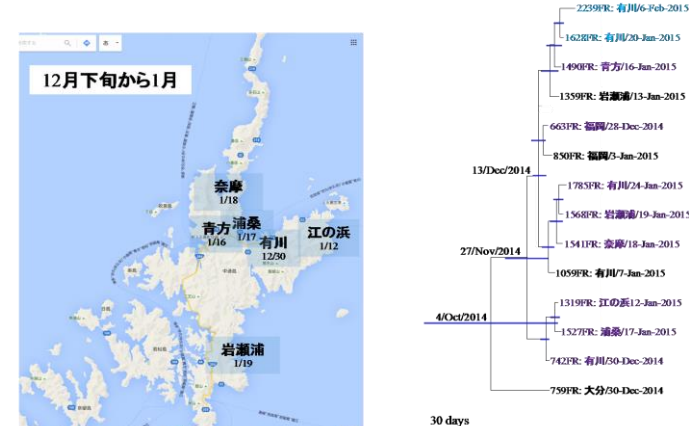


図 2. インフルエンザウイルス AH3 lineage1, 2 の上五島内における伝播の流れ